Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. A. Bohle

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUM HÄMOGLOBINTRANSPORT IN NORMALEN UND ISCHÄMISCH GESCHÄDIGTEN TUBULUSZELLEN DER RATTENNIERE

INAUGURAL–DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Angelika Susanne Haupt, geb. Krauß
aus Esslingen/N.

1978

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. A. Bohle

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUM HÄMOGLOBINTRANSPORT IN NORMALEN UND ISCHÄMISCH GESCHÄDIGTEN TUBULUSZELLEN DER RATTENNIERE

INAUGURAL–DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Angelika Susanne Haupt, geb. Krauß
aus Esslingen/N.

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. med. H. J. Mallach
1. Berichterstatter: Professor Dr. med. G. E. Schubert
(Professor Dr. med. A. Bohle)
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. med. H. Unseld

Gedruckt bei Fa. H.-J. Köhler, Reprografischer Betrieb, Neue Straße 11, 7400 Tübingen

Meinem Doktorvater und Lehrer
Prof.Dr.med. G.E.Schubert
in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536519_0087

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methodik	3
Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchung	7
Gruppe 1	7
Gruppe 2	8
Gruppe 3	9
Gruppe 4	11
Gruppe 5	14
Gruppen 6,7,8	16
Diskussion	18
Zusammenfassung	26
Abbildungen	27 - 47
Literaturverzeichnis	I - V

Einleitung

Hämoglobin wird als Chromoproteid im Blutplasma an Hapten gebunden. Ist diese Bindungskapazität erschöpft, kann es, nach Dissoziation in zwei Dimere mit einem Molekulargewicht von 32 000, glomerulär filtriert und anschließend in bestimmtem Umfang von den proximalen Tubuluszellen aufgenommen werden (BUNN u.Mitarb. 1969, BLÖHMER u.Mitarb. 1970). Die Resorptions- und Abbauvorgänge von Hämoglobin und Myoglobin in der Niere wurden schon wiederholt mit Hilfe licht- und elektronenmikroskopischer, sowie biochemischer Untersuchungsmethoden beschrieben (BUNN u. JANDL 1969, MILLER 1960, ERICSSON 1964, NEUSTEIN u. MAUNSBACH 1966, ERICSSON u. MOSTOFI 1966, BLÖHMER u.Mitarb. 1970, u.a.). Mehrere dieser Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß Injektionen großer Mengen dieses Chromoproteids in gereinigtem Zustand keine Nierenschäden erzeugen (ERICSSON u.Mitarb. 1969, LOWE 1966, YUILE u.Mitarb. 1945 u.a.).

Als Ursache des Nierenversagens bei Hämolysen und Muskelzerfallsprozessen wurden von verschiedenen Untersuchern vielmehr zusätzliche Faktoren, wie der bei diesen Erkrankungen gleichzeitig vorhandene Kreislaufschock oder eine renale Minderdurchblutung angeschuldigt (DALLNER u. ERICSSON 1964, ERICSSON u.Mitarb. 1969, WEICHERT u. SCHULZ 1974, USHIGOME 1967).

Trotzdem weisen einige Untersucher darauf hin, daß das Nierenparenchym auch direkt durch Chromoproteine geschädigt werden kann. Studien von JAENIKE (1966), JAENIKE u.Mitarb. (1966), MASON u. MANN (1931) zeigten renale Funktionsstörungen und morphologische Veränderungen nach parenteraler Zufuhr großer Mengen dieser Chromoproteine.

Bislang wurde die Frage, ob und inwieweit Hämoglobin Nierenschäden erzeugen kann, fast ausschliesslich an Versuchs-

modellen untersucht, in denen das Chromoproteid gesunden Nieren angeboten wurde. Wie sich jedoch die bereits ischämisch geschädigte Niere gegenüber einem Überangebot von Hämoglobin verhält, wurde bisher nicht näher untersucht.

Diese Frage gewinnt jedoch im Zusammenhang mit in neuerer Zeit durchgeführten Versuchen besonderes Interesse, freies Hämoglobin als Sauerstoffträger zu verwenden, um es nach Entwicklung geeigneter Lösungen eines Tages unter Umständen auch Patienten zuzuführen, die sich im Kreislaufschock befinden (FÖRSTER 1974, PESKIN u.Mitarb. 1969, RABINER u. Mitarb. 1970, SUNDER-PLASSMANN u.Mitarb. 1975, UNSELD 1974).

Wir untersuchten daher an insgesamt 24 Ratten elektronenmikroskopisch, inwieweit die Tubuluszelle zur Resorption eines Überangebotes von freiem Hämoglobin vor und nach temporärer Ischämie fähig ist, in welcher Beziehung sich die Ultrastruktur von Zellen, die sowohl einer Ischämie als auch Hämoglobin ausgesetzt wurden, von Zellen, die nur mit einem von beiden Faktoren behandelt wurden, unterscheidet und ob sich Schlußfolgerungen einer veränderten Vulnerabilität des Nierengewebes, das in großer Menge Hämoglobin speichert, ergeben.

Material und Methodik

Tierversuche

Die Versuche wurden an insgesamt 24 männlichen Wistarratten (Zucht Ivanovas, Kisslegg) durchgeführt. Das mittlere Körpergewicht betrug 180 g.

Versuchsanordnung

Die Versuche umfaßten acht Tierkollektive von je drei Tieren, an denen wir die Resorption und die Verwertung von Hämoglobin in der proximalen Tubuluszelle der Rattenniere elektronenmikroskopisch untersuchten. Die Ischämiezeit betrug bei allen Gruppen 60 Minuten, die Wiederdurchblutungszeit 48 Stunden.

Zur Hämoglobininjektion wurde eine 16,4 proz. isotone, glucose- und stromafreie Hämoglobinlösung aus Humanhämoglobin verwendet, die den Tieren in einer Dosis von 200 mg/100 g Körpergewicht über einen Zeitraum von fünf Minuten durch Punktion der Schwanzvene verabreicht wurde.
Folgende zeitliche Versuchsanordnung wurde gewählt:
In einer Gruppe wurden die Nieren nur ischämisch geschädigt, in einer zweiten Gruppe erhielten die Versuchstiere 30 Minuten vor Ischämie, in einer dritten Gruppe sofort nach Ischämie, in einer vierten Gruppe 2 Stunden nach Ischämie der Nieren Hämoglobin i.v.. In den Kontrollgruppen wurden die Tiere jeweils scheinoperiert.

Gruppeneinteilung

Kontrollgruppen

Gruppe 1 (Tier Nr. 4,6,7):
Jedem Tier wurden sofort nach Scheinoperation 2 ml NaCl injiziert.

Gruppe 2 (Tier Nr. I1, I2, I3):
Bei jedem Tier wurde eine Nierenischämie von 60 Minuten durchgeführt.

Ischämie - Hämoglobin - Gruppen

Gruppe 3 (Tier Nr. 25, 26, 27):
Jedem Tier wurde 30 Min. vor der Nierenischämie Hämoglobin injiziert.

Gruppe 4 (Tier Nr. 11, 12, 14):
Jedem Tier wurde sofort nach der Nierenischämie Hämoglobin injiziert.

Gruppe 5 (Tier Nr. 36, 37, 41):
Jedem Tier wurde zwei Stunden nach der Nierenischämie Hämoglobin injiziert.

Hämoglobingruppen

Gruppe 6 (Tier Nr. 58, 59, 60):
Jedem Tier wurde 30 Minuten vor der Scheinoperation Hämoglobin injiziert.

Gruppe 7 (Tier Nr. 46, 49, 50):
Jedem Tier wurde sofort nach der Scheinoperation Hämoglobin injiziert.

Gruppe 8 (Tier Nr. 68, 69, 70):
Jedem Tier wurde zwei Stunden nach Scheinoperation Hämoglobin injiziert.

Anlegen der Ischämie

In flacher Äthernarkose wurden bei den Versuchstieren beide Nieren von dorsal freigelegt. Der Zugang erfolgte beidseits der Wirbelsäule, lateral der Rückenmuskulatur und caudal des Rippenbogens. Die Nieren wurden zur Ausschaltung von Kapselanastomosen dekapsuliert und der Nierenhilus mit Arterie,

Vene und Ureter auf beiden Seiten mit einer feinen gebogenen Klemme (Inox BJ 9), deren Branchen zur Gewebeschonung mit Ventilgummi überzogen waren, abgeklemmt. Die Zeitdifferenz zwischen Anlegen der rechten und der linken Klemme betrug ca. 30 Sekunden, der Gesamteingriff 5 Minuten. Während der 60 Minuten Ischämiedauer wurde das Operationsgebiet provisorisch verschlossen, wobei auf physiologische Lagerung der Klemmen geachtet wurde. Die Tiere wurden während dieser Zeit in oberflächlicher Äthernarkose gehalten.

Scheinoperation

Die Tiere wurden wie oben beschrieben operiert, jedoch ohne Abklemmen des Nierenhilus.

Hämoglobindosierung

Die Hämoglobinherstellung und -Dosierung wird in der Literatur unterschiedlich angegeben. BUNN u.Mitarb. (1969), ERICSSON u. DALLNER (1964), JAENIKE u.Mitarb. (1965). In unseren Versuchen wurden die Tiere mit 200 mg/100 g KG heterologem Hämoglobin belastet. Wir verwendeten eine 16,4 proz. pyogen- und glucosefreie stromafreie Hämoglobinlösung aus humanem Hb der Fa. Biotest folgender Zusammensetzung:
Na 189 mval/l, K 3,8 mval/l, Cl 128 mval/l, Bicarbonat 30 mval/l,pH (bei 25°C) 7,4. (OCHS 1976).

Nierenentnahme

Nach der Operation zum Anlegen der Ischämie und einer Wiederdurchblutungszeit von 48 Stunden wurden die Nieren in Äthernarkose über einen ventralen Bauchschnitt mobilisiert, der Nierenhilus zwischen zwei Klemmen durchtrennt und die Nieren entnommen. Nach dem Wiegen der Organe erfolgte deren Lamellierung und das Einbringen in 4 proz. gepuffertes Formalin (Phosphatpuffer nach Sörensen ph 7,4). Die Zeitdauer zwischen Nierenentnahme und Einbringen in die Fixations-

lösung betrug maximal 60 Sekunden. Die Nachfixierung erfolgte in 2 % Osmiumsäure (Na-Cacodylatpuffer pH 7,4).

Aufarbeitung für die Elektronenmikroskopie

Von den entnommenen Nieren wurden die rechten zur lichtmikroskopischen, die linken zur elektronenmikroskopischen Untersuchung verwendet.

Für die letztere wurden nach Fixation aus fünf verschiedenen Rindenbezirken mit der Rasierklinge ca. 1 x 1 x 1 mm messende Gewebsstücke entnommen. Diese wurden nach GLAUERT et al. (1956) in Araldit eingebettet. Zur Übersicht wurden von dem eingebetteten Material ca. 0,5 - 1 µ dicke Schnitte hergestellt, die mit Toluidinblaulösung gefärbt wurden.

Nach Aufsuchen proximaler Tubuli in diesen Semidünnschnitten wurden mit der Rasierklinge unter dem Mikroskop ca. 9 - 15 Tubuli je Niere herausgetrimmt und die so vorbereiteten Blöcke mit dem Glasmesser auf dem Ultradünnschnittmikrotom (Reichert OM U 3) geschnitten. Die Schnittdicke betrug ca. 60 - 100 nm. Die Schnitte wurden auf Schlitznetzen aus Kupfer aufgefangen, welche mit Folie aus 0,2 proz. Pioloform F - Lösung (Fa.Wacker Chemie) beschichtet waren. Anschließend erfolgte das Kontrastieren, wozu die Schnitte zuerst für 45 Minuten in eine wässrig gesättigte Uranylacetat-Lösung eingebracht wurden. Daran schloß sich eine Bleikontrastierung von 5 Minuten (REYNOLDS 1963) an. Die Schnitte wurden am Siemens Elmiskop 102 mikroskopiert. Die Originalvergrößerungen lagen zwischen 1000 und 40 000 fach.

Die elektronenoptischen Bilder wurden auf Scientia-Film von Agfa (23 D 56 AH 7, Format 6,5 x 9 cm) aufgenommen und zur Auswertung auf Rapidoprint-Fotopapier mit normaler Gradation abgezogen. Zur Reproduktion wurden Hand-Abzüge auf Agfa Gevaert Brovira Positivpapier mit harter Gradation verwendet.

Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchung

Gruppe 1 - Scheinoperation

(Abb.1)

Bei allen drei Tieren finden sich neben intakten ganz vereinzelt nekrotische Tubuluszellen. Der Bürstensaum ist gut erhalten und dicht. Auch bei den als Zeichen einer beginnenden Nekrose hydropisch geschwollenen Zellen ist er häufig noch intakt, an anderen Stellen bricht er abrupt ab. Die Tubuluslumina sind eng, meist fast geschlossen und enthalten amorphes Material von geringer Elektronendichte.

Die häufigste Mitochondrienveränderung in dieser Gruppe ist eine Schwellung vom Mischtyp nach THOENES (1964). D.h. der Matrixraum ist erweitert, die Cristae haben größtenteils ihre parallele Schichtung verloren und zeigen eine, wenn auch geringfügige, Aufweitung. Dabei sind die Mitochondrienveränderungen sowohl in den hydropisch geschwollenen Zellen, deren Bürstensaum schon aufgelöst ist, als auch in den nicht geschwollenen Zellen gleich. Inwieweit diese Veränderungen durch Fixierung verursacht sein mögen, können wir nicht beurteilen. Das endoplasmatische Retikulum ist bei allen Tieren in den intakten Zellen normal verteilt, es scheint nicht oder nur unwesentlich aufgeweitet zu sein. In hydropischen Zellen, deren Inhalt gerade ins Lumen entleert wird, fehlt das Endoplasmatische Retikulum dagegen weitgehend oder die Menge ist gegenüber der Normalzelle vermindert.

Die Golgiregionen befinden sich hauptsächlich in Kernnähe und zeigen keine Auffälligkeiten.

Die Kerne selbst sind unverändert, die Chromatinverteilung scheint normal, der Nukleolus ist gut zu differenzieren, auch die mit Poren durchsetzte Kernmembran ist gut abgrenzbar.

Im Cytoplasma fallen in den meisten Zellen einige wenige Organellen auf, die von einer einschichtigen Membran umgeben sind. Sie enthalten fädige Strukturen, welche Mitochondrienreste darstellen, sowie vereinzelt Ribosomen. Diese Organellen können nach DE DUVE u. WATTIAUX (1966) als Autolysosomen bezeichnet werden.

Bei einem Tier finden sich in den Epithelien eines Tubulus runde, elektronendichte, von einer Membran umgebene Organellen. die manchmal zentral aufgehellt sind und deren Aussehen den Endocytosevesikeln in Tubuluszellen von Tieren der Ischämie - Hämoglobin - Gruppe entspricht. Das basale Labyrinth sowie die Basalmembran sind unauffällig.

Gruppe 2 - Nierenischämie von 60 Min. Dauer

Die nach einstündiger Ischämie zu erwartenden Zellveränderungen halten sich in Grenzen. Eine mäßige Anzahl nekrotischer, bzw. hydropisch geschwollener Zellen findet sich zwischen scheinbar intakten Zellen. Die Lumina sind an manchen Stellen eng, an anderen mäßig weit.

Der Bürstensaum ist bis auf hydropisch geschwollene Zellen dicht und nicht ganz so hoch wie in Gruppe 1. In hydropisch geschwollenen Zellen ist der Bürstensaum niedriger und bricht in Zellen mit Zeichen der Cytolyse auch ganz ab. An manchen Zellen finden sich die von THOENES (1964) beschriebenen Kuppenblasen.
Die Mitochondrienveränderungen zeigen sowohl Schwellungen vom Matrix- und Cristatyp, als auch vom Mischtyp. Crista- und Matrixtyp finden sich in den hydropisch geschwollenen Zellen. In einigermaßen intakt aussehenden Zellen erscheinen die Mitochondrien etwas kleiner und kompakter, d.h. elektronendichter als in der scheinoperierten Kontrollgruppe. Die Schwellungen sind hier vom Mischtyp. Liegt das Endoplasmatische Retikulum in Strängen, so sind seine Innenräume,

besonders in den hydropisch geschwollenen Zellen, aufgeweitet. Ist das rauhe Endoplasmatische Retikulum in wenig veränderten Zellen hauptsächlich in Strängen angeordnet, so sind die Ribosomen in nekrotischen Zellen unterschiedlich stark in Grüppchen verteilt. Die Golgi-Regionen sind unauffällig. Die Kerne sind unterschiedlich verändert. In geschwollenen Zellen weisen sie eine gestreckte Kernhülle auf, das Karyoplasma ist im wesentlichen transparent und zeigt nur an einer Stelle eine Verklumpung, wobei der Nukleolus nicht zu differenzieren ist. In weniger veränderten Zellen sind auch die Kernveränderungen geringer. Die Verklumpung des Karyoplasmas ist nicht auf eine Stelle begrenzt, es findet sich eine schollige Verteilung. Die Gesamttransparenz ist geringer, die Kernhülle ist oft ausgebuchtet, sie wirkt nicht so gespannt.

Die Mehrzahl der Phagosomen in dieser Gruppe sind Autophagosomen, es kommen daneben auch einige Heterophagosomen, bzw. -lysosomen vor, die elektronendichtes Material aufgenommen haben. Das basale Labyrinth ist in hydropisch geschwollenen Zellen aufgelöst, in den anderen Zellen mäßig bis stark vermindert. Die Basalmembran ist unauffällig.

Gruppe 3 - Hämoglobininjektion 30 Min. vor Ischämie

In dieser Gruppe haben die Tubuluszellen reichlich elektronendichtes Material, bei dem es sich, wenn man von den Untersuchungen von ERICSSON (1964) ausgeht, offensichtlich um Hämoglobin handelt, gespeichert. Im Vergleich zur folgenden Gruppe 4 befinden sich die Resorptions- und Abbauvorgänge in einem etwas weiter fortgeschrittenen Stadium. Die Elektronendichte des in Phagosomen gespeicherten Materials ist nicht immer homogen, sondern oftmals von scholliger

Struktur. Die Tubuli weisen äußerst viele Nekrosen auf. Einzelne Tubuli bestehen ausschließlich aus hydropisch geschwollenen und nekrotischen Zellen. Anhydropische Nekrosen lassen sich nicht nachweisen.

Die Lumina sind weit, mit abgestoßenen Zellkernen, Organellen und Phagosomen, welche elektronendichtes, dem Hämoglobin entsprechendes Material enthalten, angefüllt, die Tubuluszellen erniedrigt.
An Stellen mit intaktem Bürstensaum ist dieser sehr niedrig häufig bricht er jedoch ab und es findet eine Cytolyse statt. Oft weisen die Zellen Kuppenblasen auf. Weiterhin fallen blasenartige Aufweitungen der Mikrovilli an Stellen der Cytolyse auf, die so ins Lumen abgestoßen werden (Abb.4).

Unterhalb des Bürstensaums finden sich trotz erheblicher Zellschäden noch ziemlich viele Pinocytosebläschen, die ihren elektronendichten Inhalt in apikale Vakuolen entleeren (Abb.5).
Die Mitochondrienveränderungen entsprechen in den Harnkanälchen, in denen der Hämoglobinabbau noch nicht so weit fortgeschritten ist (Tier 26, 27) wie in anderen Tubuli (Tier 25), den Schwellungen vom Mischtyp, bei Tier 25 handelt es sich dagegen ausschließlich um Schwellungen vom Cristatyp.
Die gleichmäßig elektronendichten Phagosomen sind von apikal nach basal ausgerichtet. Tier 25 mit seinem weiter fortgeschrittenen Resorptions- und Abbaustadium zeigt ausschließlich Ambiphagosomen, die kleinflockiges oder feingranuliertes Material, das elektronendicht ist, enthalten. Die Anzahl der Ambiphagosomen entspricht etwa den der einfachen Heterophagosomen.
Das Endoplasmatische Retikulum ist in Zellen, die nicht der totalen Cytolyse unterworfen sind, stark vermehrt, es liegt zum größten Teil wieder gleichmäßig verteilt vor. Die wenigen ER-Schläuche sind aufgeweitet, teilweise sogar vakuolig.

Die Golgi-Regionen befinden sich hauptsächlich in Nähe der Ambiphagosomen und sind gegenüber den Kontrolltieren vermehrt.
Die Zellkerne sind in ihrer Grundstruktur transparent geworden, es hat eine völlige Entmischung des Chromatins stattgefunden, es ist an einer Stelle zusammengeklumpt, so daß der Nukleolus nicht mehr zu differenzieren ist.
Die Kernhülle ist scharf begrenzt, weist jedoch keinen chromatinhaltigen Randsaum auf.
Das basale Labyrinth ist meist verschwunden, oder wenn vorhanden, aufgeweitet.
Einige nekrotische Zellen heben sich von der Basalmembran ab (Abb.6).

Gruppe 4 - Hämoglobininjektion sofort nach Ischämie

Wie aus der Übersicht (Abb.7) hervorgeht, haben die proximalen Tubuluszellen sehr viel elektronendichtes Material, das vorwiegend in apikalen und intermediären Abschnitten der Hauptstückepithelien lokalisiert ist, aufgenommen.
Der Transport dieser elektronendichten Substanz, die aufgrund von Vergleichen mit Untersuchungen von ERICSSON (1964), ERICSSON (1965) und ERICSSON u. MOSTOFI (1969) als Hämoglobin angesehen werden kann, ist noch nicht weit fortgeschritten, die Nekrosen sind gering. An anderer Stelle sind nur wenige elektronendichte Tröpfchen zu sehen. Sie weisen eine homogene Struktur auf, d.h. sie stehen offensichtlich am Beginn des Transportes. In diesem Bereich finden sich weniger hydropische Zellschwellungen, sondern mehr anhydropische Nekrosen. Dabei sind basale Myelinfiguren zu erkennen, die aufgrund des Wasserentzugs durch Kollabieren des basalen Labyrinths entstehen (THOENES 1964) (Abb.8).

Diese anhydropischen Nekrosen finden sich auch bei Tier 14, während bei Tier 12 die hydropische Schwellung besonders ausgeprägt ist.
Bei allen Tieren ist der Bürstensaum im Vergleich zu den scheinoperierten Kontrolltieren niedrig, an manchen Stellen bricht er völlig ab. Hier wird der Zellinhalt in das Tubuluslumen ausgestoßen (Abb.9).
Die Lumina sind weit und mit Ausnahme von Tier 12 mit abgestoßenen Zelltrümmern ausgefüllt, in denen sich mit elektronendichtem, dem Hämoglobin entsprechendem Material beladene Organellen befinden. Die Zellen erscheinen insgesamt wesentlich niedriger als bei den scheinoperierten Kontrolltieren.
Die Mitochondrien zeigen eine zum Teil geringe Schwellung vom Mischtyp. Bei Tier 12 finden sich neben diesen insbesondere solche vom Cristatyp.
In allen Zellen, die resorbieren, schnüren sich vom Bürstensaum im apikalen Zellbereich zahlreiche Pinocytosebläschen ab, die mit ziemlich elektronendichtem Material gefüllt sind. In der gleichen Zellregion finden sich größere Vakuolen, die aus Verschmelzung von Pinocytosebläschen entstanden sind und den von ERICSSON (1964) als apikale Vakuolen bezeichneten Strukturen entsprechen. Außerdem enthält die apikale Zellregion kleinere Tropfen, welche sich in Richtung Zellbasis in Straßen ausrichten und dabei größer werden.
Die kleineren Tröpfchen enthalten meist homogenes elektronendichteres Material, die größeren weisen in stärkerer Vergrößerung eine mehr schollige Struktur auf. Der Inhalt ist verschieden elektronendicht.
Wie aus Abb.10 hervorgeht, nehmen diese Phagosomen zusätzlich zu ihrer Beladung mit heterologem Material autologe Strukturen wie z.B. Mitochondrien auf und werden danach zu Ambiphagosomen (DE DUVE u. WATTIAUX 1966). Sie bauen sowohl heterogenes wie autogenes Material ab. Phagolysosomen,

die größer sind als die vorher beschriebenen elektronendichten Phagosomen und die granuliertes Material enthalten, das nach Untersuchungen von ERICSSON (1964) Hämosiderin darstellt, entsprechen einem fortgeschrittenerem Abbaustadium. Außerdem enthalten sie filamentartige, in rundovaler Form - wie Mitochondrien - liegende Autophagiereste. In dieser Gruppe besteht der Hauptanteil der hämoglobinspeichernden Organellen aus Phagosomen, deren Inhalt eine mehr oder weniger homogene Elektronendichte aufweist. Diese Phagosomen liegen meist in der apikalen Hälfte der Zelle. Basalwärts liegen die gut abgrenzbaren Ambiphagosomen mit granuliertem und filamentartigem Inhalt, die zumeist einen größeren Durchmesser als die Phagosomen haben.
In Tier 12 sind nur wenige dieser Organellen enthalten, die Phagolysosomen liegen fast ausschließlich als Ambiphagosomen vor. Bis auf Bereiche innerhalb der anhydropischen Nekrosen lassen sich keine den reinen Autolysosomen entsprechenden Strukturen nachweisen. Entsprechend der Proteinfülle in den Phagosomen ist in allen Zellen dieser Gruppe - Tier 12 teilweise ausgenommen - das endoplasmatische Retikulum stark vermehrt. Die ER - schläuche sind teilweise aufgeweitet und es liegt auch hier der größte Teil der Ribosomen gleichmäßig, oft dicht gepackt, zumeist in Vierergrüppchen im Cytoplasma verstreut.

Die Golgiregionen sind, wie es aufgrund ihrer Funktion zu erwarten ist, in dieser Gruppe gegenüber den Kontrollgruppen vermehrt. Dies trifft auch für Tier 12 zu, bei dem wie oben beschrieben, nur wenige Phagosomen gefunden werden. Daher könnte man durchaus annehmen, daß in diesem Bereich der Hämoglobinabbau schon weitgehend abgeschlossen ist (Tier 12). Die Zellkerne zeigen ein aufgelockertes Karyoplasma, das nur vereinzelte Chromatinverklumpungen aufweist. Die Kernhülle ist glatt und hat einen chromatinhaltigen Randsaum.

Im basalen Teil der Zellen, die nicht von einer anhydropischen Nekrose betroffen sind, ist das basale Labyrinth aufgeweitet, die Basalmembran ist unregelmäßig in Form von Zacken verdickt. Sie ist an keiner Stelle unterbrochen.

Bei den Organellen der in den Lumina liegenden abgestoßenen Zellen oder Zellteile handelt es sich zumeist um ER, Autolysosomen, Phagosomen und Ambiphagosomen, sowie um Mitochondrien, die nicht stark destruiert sind.

Gruppe 5 - Hämoglobininjektion 2 Std. nach Nierenischämie

Diese Gruppe wird nicht so sehr von zugrunde gegangenen Zellen beherrscht wie Gruppe 3.
Man kann bei allen Tieren eine erhebliche Anzahl hydropisch geschwollener Zellen feststellen, sie befinden sich jedoch noch im Zellverband, nur wenige werden gerade ausgestoßen. Vereinzelt sind hier wieder anhydropische Nekrosen zu sehen.

Der Bürstensaum ist auch hier niedrig, bei Tier 41, das eine besondere Art der Speicherung von elektronendichtem Material aufweist, sieht er wie ausgedünnt aus. Von der Zelloberfläche ragen nur noch wenige niedrige Mikrovilli ins Lumen.
Die Lumina sind wie bei den vorigen Versuchsgruppen weit, aber nicht so extrem mit abgestoßenen Zellen, bzw. Zellteilen vollgestopft. Die Hämoglobinresorption ist im ganzen schon ziemlich weit fortgeschritten, wie am Fehlen homogen elektronendichter Heterophagosomen erkennbar ist. Es finden sich ausschließlich Ambilysosomen, mit ausgeprägten Zeichen der Heterophagie.
Die Lysosomen, die feingranuläres Material enthalten, werden als Telolysosomen oder "residual bodies" bezeichnet (MAUNSBACH 1969, SANDRITTER 1974) (Abb.11).
Bei diesem feingranulären Material handelt es sich offensichtlich um die Hämoglobinabbauprodukte Hämosiderin und

Ferritin (ERICSSON 1964).
In dieser Gruppe finden sich ausgesprochen viele Ambilysosomen bzw. Telolysosomen. Sie sind ziemlich groß und liegen auch im apikalen Zellbereich (Abb.12). Wie oben schon angeführt, zeigen einige Tubuli in Tier 41 eine besondere Form der Speicherung von elektronendichtem Material. Innerhalb hydropisch geschwollener Zellen mit ziemlich transparentem Cytoplasma befinden sich meist eckige, wie in Tafeln liegende Kristalle (Abb.13, 14). ERICSSON u. MOSTOFI (1969) fanden in ihren Untersuchungen ähnliche Kristalle und bezeichneten sie als Hämoglobinkristalle.
Die Kristalle sind in von Membranen umgebenen Organellen zu finden, so daß man aufgrund der unterschiedlichen Elektronendichte, sowie aufgrund des Auftretens von Strukturen aus Autophagieprozessen diese Figuren zu den Lysosomen rechnen kann. Dieser Befund wurde nur in dieser Gruppe erhoben.

Die Mitochondrien sind wenig bis stark verändert und zeigen wieder alle drei Arten der Schwellung. Das Endoplasmatische Retikulum ist auch hier vermehrt, die vakuolige Aufweitung der ER-Schläuche besonders ausgeprägt. Die ER-Schläuche legen sich oftmals in Nähe der Lysosomen circulär um Mitochondrien (Abb.15). Die Golgi-Regionen finden sich wie in Gruppe 3 vorwiegend um die riesigen Ambiphagosomen angeordnet.
Die Zellkerne sind auch hier transparent und mit glatter Kernhülle, weisen oft kein Chromatin auf, oder aber sie lassen Mitosezeichen erkennen.
Einen weiteren Befund stellen die in dieser Gruppe gehäuft auftretenden Fetttropfen dar, sie liegen meist in basalen Zellbereichen (Abb.16).
Das basale Labyrinth sieht ebenso wie in den vorigen Gruppen in intakten Zellen normal aus, in hydropisch geschwollenen Zellen ist es aufgeweitet oder aber ganz verschwunden. An der Basalmembran finden sich keine Auffälligkeiten.

Gruppe 6, Gruppe 7, Gruppe 8
Scheinoperierte Hämoglobingruppen

Da sich die Befunde in allen drei Gruppen in etwa entsprechen, sollen sie gemeinsam beschrieben werden. Bei dieser Versuchsanordnung gibt es eine ganz erhebliche Anzahl hydropisch geschwollener Hauptstückepithelien. Auffallend ist, daß dies vor allem für Zellen zutrifft, die noch Reste der Hämoglobinspeicherung aufweisen. Insgesamt lassen die morphologischen Zeichen auf eine abgeschlossene zelluläre Hämoglobinaufnahme und dessen Transport schließen. Es finden sich vergleichsweise wenige hämoglobinhaltige Phagosomen. Die wenigen Lysosomen liegen in der Mehrzahl als Telolysosomen vor, deren Inhalt fein granuliert ist (Abb.17).

Der Bürstensaum ist in allen drei Gruppen sehr viel höher als in den Ischämie - Hämoglobingruppen. Einzelne Tubuli, die besonders stark von hydropischen Zellschwellungen betroffen sind, und die gerade einige Zellen ausstoßen, stellen die Ausnahme dar. (Hauptsächlich in Gruppe 8). Die Zellen sind hoch und in Tubuli mit wenig Restspeicherung sind die Lumina geschlossen. Neben Telolysosomen und Ambilysosomen finden sich auch Autolysosomen (Abb.18).
Besonders in Gruppe 7 treten viele Myelinfiguren auf (Abb.19).
Ein weiteres, sehr auffälliges Merkmal besteht darin, daß in besonders stark geschädigten Zellen, deren Cytoplasma eine völlige Transparenz aufweist, und die nur noch wenige Organellen enthalten, oft mehrere Ambilysosomen und Telolysosomen gelegen sind. Häufig sind deren Grenzmembranen rupturiert (Abb.20 und 21). Trotz dieser starken Zellschädigung sind die wenigen noch vorhandenen Mitochondrien in diesen stark lädierten Zellen zum Teil nur unwesentlich verändert. Dies tritt besonders in Gruppe 6 auf, ist aber auch in den Gruppen 7 und 8 zu finden.

Die Mitochondrien zeigen wieder Schwellungen vom Mischtyp, aber es treten auch solche vom Cristatyp auf.
Das Endoplasmatische Retikulum ist nur in Zellen mit Telolysosomen vermehrt, dort vor allem in Nachbarschaft der Lysosomen und um sie herum. Es fällt weniger eine diffuse Verteilung der ER-Granula, als eher eine Anordnung in ER-Schläuchen auf, die aber erweitert sind.
Die Golgi-Regionen liegen zum Teil in unmittelbarer Nähe zu den Telolysosomen, sind hier aber auch in Kernnähe zu finden.
Die Kerne sind in diesen Gruppen nicht ganz einheitlich verändert. Neben wenig normal aussehenden zeichnen sie sich durch mehr oder weniger starke Entmischung des Karyoplasmas aus. In allen drei Gruppen sind reichlich Mitosen zu beobachten.
Das basale Labyrinth ist in intakten Zellen unauffällig, in hydropischen Zellen wie schon bei den vorherigen Gruppen beschrieben.

Diskussion

Wie aus vorliegenden Untersuchungen hervorgeht, sind die Nierentubuli einstündig ischämisch geschädigter Rattennieren in der Lage, Hämoglobin (Hb) zu resorbieren und zu transportieren, unabhängig davon, ob das Hb unmittelbar nach oder zwei Stunden nach Ischämie injiziert wurde. Das Resorptionsstadium ist in der Hb-Gruppe und Ischämie-Hb-Gruppe unterschiedlich, wobei die einzelnen Untergruppen des Ischämie-Hb-Kollektivs verschieden weit fortgeschrittene Resorption zeigen.

Bei allen drei scheinoperierten Gruppen, die Hb erhielten, ist der Hb-Abbau zum Zeitpunkt des Tötens etwa 48 Std. nach der Injektion an einer Stufe angelangt, in der wir nur noch feingranuläres, elektronendichtes Material finden, das nach Beobachtungen von ERICSSON (1964) Siderin bzw. Ferritin entspricht.

In den Ischämie-Hb-Gruppen finden wir dagegen in Phagosomen bzw. Phagolysosomen gleichmäßig stark elektronendichte Tropfen, bei denen es sich aufgrund der strukturellen Identität mit gleichartigen Befunden von ERICSSON (1964, 1965), ERICSSON u. MOSTOFI (1969) u.a. um Chromoprotein, d.h. Hb oder eines seiner Abbauprodukte handeln dürfte.

Diese gleichmäßig elektronendichten Tropfen sind wie in Straßen vom apikalen Zellbereich bis zur Basis ausgerichtet. Vor allem in der Gruppe, welche Hb unmittelbar nach Anlegen der einstündigen Nierenischämie erhielt, konnte dieser Befund erhoben werden. Wurde Hb 30 Min. vor bzw. 2 Stunden nach Ischämie gegeben, so finden wir in einigen Phagolysosomen einen fortgeschritteneren Abbau. Neben homogen elektronendichten Phagosomen liegen solche mit scholligem, manchmal auch feingranulärem Inhalt vor. ERICSSON (1964) und BUNN u. JANDL (1969) fanden dieses Stadium des Hb-Abbaus bei Dosierungen zwischen 40 mg und 300 mg / 100 g KG in

Nieren sonst unbehandelter Ratten bereits 2-4 Stunden nach Hb-Injektion. Nach 8 Stunden waren die morphologischen Zeichen des Hb-Transportes in den Versuchen dieser Autoren abgeschlossen und der Abbau auf einer Stufe angelangt, in der nur noch Hämosiderin und Ferritin nachgewiesen wurden.

Untersuchungen mit radioaktiver Markierung verschiedener Anteile des Hb-Moleküls ergaben, daß nach 3 Stunden nur noch 1/45 des Hämoglobins in Tubulusepithelien gesunder Rattennieren unverändert nachzuweisen ist (BUNN u. JANDL 1969). Proximal rückresorbiertes Häm und Globin werden rasch, wie andere Proteine auch (BOUDEAU u. CARONE 1974), in situ katabolisiert. Das nach glomerulärer Ausscheidung von großen Hb-Mengen in den Harnkanälchen entstehende Eisen wird hingegen langsam reutilisiert und hat eine Halbwertszeit von 30 bis 40 Tagen (BUNN u. JANDL 1969).

Ein Vergleich dieser an normalen Rattennieren gewonnenen Untersuchungsergebnisse anderer Autoren mit unseren Befunden der Hb-Resorption und des Hb-Abbaus zeigt, daß der Hb-Abbau in ischämisch geschädigten Nieren mit ca. 40-44-stündiger Verspätung stattfindet, oder der Abbau auf bestimmten Stufen stehen bleibt. Diese Stagnation ist offensichtlich Folge eines Energiemangels und dauert wahrscheinlich an, bis die regenerierten Zellen wieder ausreichend Energie zur Verfügung stellen können.
Wird Hb 30 Min. vor Anlegen der Ischämie injiziert, so haben die Tubuluszellen noch genügend Zeit, einen großen Teil des injizierten und glomerulär filtrierten Hb zu resorbieren, bevor der durch Ischämie hervorgerufene Sauerstoffmangel auf die Zelle einwirkt. Nach einer gewissen Erholungszeit gehen der intrazelluläre Hb-Transport und Abbau dann weiter. Folgt die Hb-Injektion unmittelbar auf die Ischämie, so finden wir eine Verteilung von homogenen Tröpfchen, wie sie ERICSSON (1964) am Beginn der Transportvorgänge in gesunden Rattennieren beschreibt. Da die Zellen in dieser Gruppe

unmittelbar nacheinander durch zwei Faktoren, nämlich Ischämie und Hämoglobin belastet werden, könnte dies nach kurzer Resorptionsphase eine längere Erholungszeit bedingen und damit ein späteres Einsetzen der weiteren Transportvorgänge nach sich ziehen. Der fortgeschrittenere Hb-Abbau in den Nieren der Tiere, denen Hb erst 2 Stunden nach Ischämie injiziert wurde, läßt auf Erholungsvorgänge in der Zelle zwischen Beginn der Wiederdurchblutungszeit und der 2 Stunden später folgenden Hb-Belastung schließen.

Im ultrastrukturellen Bereich stellen Endocytosevesikel, Phagosomen und Phagolysosomen das morphologische Substrat des Transportes und Abbaus von Hb dar. Proteinhaltige Phagolysosomen sind in unseren Untersuchungen bei allen Versuchstieren vorhanden, treten in den Kontrollgruppen 1 und 2 nur vereinzelt auf und sind hier wahrscheinlich durch die bei der Ratte physiologische Proteinurie bedingt. Neben diesen wenigen Heterophagolysosomen sind in den Kontrolltieren ausschließlich Autophagosomen zu finden. Sie dienen der Abräumung von zelleigenem Material, dessen Abbau und der Bereitstellung der Abbauprodukte zur Neusynthese (SANDRITTER 1974). Tiere, denen Hb verabreicht wurde, enthalten dagegen Organellen, die sich in Größe, Form, Anordnung und Elektronendichte erheblich von denen der Kontrolltiere unterscheiden. In den scheinoperierten Hb-Gruppen sind zum Zeitpunkt des Tötens ebenfalls nur noch wenige Heterolysosomen vorhanden; diese liegen häufig schon als Telolysosomen oder "residual bodies" vor, was darauf hinweist, daß der Hb-Abbau bereits weitgehend abgeschlossen ist. Tubulusepithelien der Ischämie-Hb-Gruppen enthalten dagegen ausschließlich Ambi- und Heterophagosomen bzw. Ambi- und Heterolysosomen, die als Organellen nach SLATER (1969) erst durch eine 6-stündige Ischämie geschädigt werden.

Die Gesamtzahl der Lysosomen übersteigt die der Kontrollgruppen. Dabei überwiegen die Heterophagosomen und Heterolysosomen. Durch das Überangebot an Protein sind alle Phagosomen mit Hb belegt. Diese Phagosomen verschmelzen nach SANDRITTER (1974), DE DUVE u. WATTIAUX (1966) mit primären Lysosomen aus dem GERL-Komplex, welcher aus dem Golgi-Apparat besteht, der mit dem rauhen endoplasmatischen Retikulum eine funktionelle Einheit bildet, aus der sich die Lysosomen ableiten.

Die mit Hb vollbeladenen Phagosomen haben nicht die Fähigkeit verloren, noch zusätzlich zelleigenes Material wie z.B. Mitochondrien aufzunehmen und damit zu Ambiphagosomen zu werden.

Auch die Größe der Lysosomen weist Unterschiede auf. Sind sie in den scheinoperierten und ischämisch geschädigten Kontrollgruppen selten größer als Mitochondrien, so werden die Phagosomen und Phagolysosomen in den Ischämie-Hb-Gruppen und Hb-Gruppen sehr groß und erreichen den bis zu vierfachen Durchmesser der Mitochondrien.

Auch die in den Hb-Gruppen vorhandenen Telolysosomen haben diese Größe. Ein besonders auffälliger Befund ist in den Tubulusepithelzellen der scheinoperierten Hb-Gruppe zu finden. Nur bei diesen Tieren finden sich in hydropisch geschwollenen Zellen Telolysosomen mit rupturierter Membran. Damit kommt eine mehr oder weniger breite Verbindung zwischen Telolysosomeninnenraum und umgebendem Zellplasma zustande.

Die oben beschriebene Lysosomenausweitung und die Membranruptur soll nach DE DUVE u. WATTIAUX (1966) bei einem Mißverhältnis zwischen angebotenem Material und lysosomalen Enzymen eintreten.

Auch BRAUN u.Mitarb. (1966) sehen eine gesteigerte Vulnerabilität der Zelle bei nicht adäquatem Zellmetabolismus durch

Zerstörung der Integrität der Membranselektivität. Unter Berücksichtigung der obengenannten Hypothese von DE DUVE u. WATTIAUX könnte also ein Überangebot von Hb auf diesem Wege zur Zelläsion führen und die direkte Nierenschädigung erklären, die von einigen Autoren (JAENIKE 1966, JAENIKE u.Mitarb. 1966, MASON u. MANN 1931) nach alleiniger Hb-Injektion beobachtet wurde.

Der Bürstensaum als Membranlieferant für die Pinocytose-vesikel zeigt in den verschiedenen Gruppen unterschiedliche Höhe und Dichte und steht in direktem Verhältnis zu den Resorptionsvorgängen, aber auch zu den Zellschäden. Der Bürstensaum ist in der scheinoperierten Kontrollgruppe hoch und dicht, die Lumina sind geschlossen, man findet einzelne nekrotische Zellen.
In der Ischämie-Gruppe ist er etwas niedriger, an manchen Stellen nicht so dicht, - meist in stark hydropisch geschwollenen Zellen -, auch hier sind die Lumina zum Teil geschlossen.
Die Tubuli der Ischämie-Hb-Gruppe haben im Gegensatz dazu ein weites Lumen, die Zellen sind flach und der Bürstensaum ist an den wenigen Stellen, an denen er noch vorhanden ist, sehr niedrig und zum Teil nur noch als einzelne Mikrovilli vorhanden. Dies entspricht, wie bei ERICSSON (1964), der Resorptionsrate, da sich die zahlreichen in diesen Gruppen vorhandenen Vesikel vom Bürstensaum abschnüren und dieser erst wieder mit Hilfe von Energie wieder aufgebaut werden muß. Bei den Hb-Gruppen ist der Bürstensaum 48 Stunden nach der Hb-Zufuhr entsprechend dem fortgeschrittenen Hb-Abbau im wesentlichen wiederhergestellt, aber noch niedriger als in der scheinoperierten Kontrollgruppe. Die Lumina sind meist geschlossen.
Allein an der Mitochondrienveränderung zu der Frage Stellung zu nehmen, in welchem Umfang der Zellschaden durch Ischämie,

durch Hb-Injektion oder durch Kombination beider Faktoren verursacht wird, ist nicht möglich.
Einerseits sind in allen Gruppen stark hydropisch geschwollene Zellen zu finden, andererseits scheinen die Mitochondrienveränderungen in keinem direkten Verhältnis zu anderen Läsionen der Ultrastruktur der Zelle zu stehen. So sind relativ geringgradige Mitochondrienschwellungen meist vom Mischtyp zu finden, unabhängig vom Ausmaß der sonstigen Tubuluszellschäden. Nur in einzelnen Tubuli der Tiere, die Hb 30 Min. vor der Ischämie erhielten, und in Zellen nur mit Hb behandelter Ratten mit rupturierten Lysosomenmembranen finden sich ausnahmsweise extrem geschwollene Mitochondrien.
Während THOENES (1964) eine Reabsorption und Transport von Flüssigkeiten in einstündig ischämisch geschädigten Tubuluszellen aufgrund ihres Energiebedarfs für unwahrscheinlich hält, findet nach Untersuchungen von CUPPAGE u.Mitarb. (1973) frühzeitig, - ohne nähere Zeitangabe - eine Mitochondrienhyperplasie und eine darauf folgende Zunahme des Mitochondrienvolumens statt, um die Energie für aktive Transportvorgänge zu liefern. Hierdurch wird der von uns beobachtete Hb-Transport trotz ischämischer Schädigung erklärbar.

Von den übrigen Zellorganellen zeigt das Endoplasmatische Retikulum, vorwiegend das rauhe, als Parameter der resorptiven Tätigkeit vor allem in Zellen der Ischämie-Hb-Gruppe im Gegensatz zu den Kontrollgruppen eine starke Vermehrung. Die Ribosomen liegen meist locker verstreut, die Retikulumschläuche sind in allen Gruppen mehr oder weniger aufgeweitet. Die stärksten Aufweitungen sind in der Ischämie- und den Ischämie-Hb-Gruppen. Die Retikulumschläuche sind hier seltener als in den nur mit Hb behandelten Tieren. Einen Hinweis für die beginnende Autophagie in Zellen mit stark hydropischer Schwellung bzw. Cytolyse liefert das

Endoplasmatische Retikulum, das cirkulär um Mitochondrien herum angeordnet ist. Nach SANDRITTER (1974) sollen daraus Autolysosomen entstehen, indem die innere Membran platzt und die zwischen beiden Membranen gebildeten lysosomalen Enzyme das Zellorganell anzudauen beginnen.

Während die Mitochondrien keinen Gradmesser für das Gesamtmaß der Zellschädigung darstellten, zeigen die Zellkerne unterschiedliche Veränderungen je nach Schwere des Schadens. Die stärksten Schäden sind an den Zellkernen der mit Hb und Ischämie behandelten Tiere zu finden. Sie nehmen in der Reihenfolge der Gruppen 4, 3, 5 an Stärke zu. Die Kernhüllen weisen eine glatte Begrenzung auf, es zeigt sich in den einzelnen Gruppen eine zunehmende Transparenz des Karyoplasmas und eine Zusammenklumpung des Chromatins. Am ausgeprägtesten sind die Veränderungen, wenn Hb 2 Stunden nach Ischämie gegeben wurde. Zwar sind diese Zeichen auch in den Hb-Gruppen feststellbar, aber es finden sich weit mehr geringgradig veränderte Kerne.

Betrachten wir die Zellschäden insgesamt, müssen wir feststellen, daß die bei weitem ausgedehntesten Schäden in der Hb-Ischämie-Gruppe zu finden sind. So zeigen sich vor allem, wenn Hb 30 Min. vor Ischämie gegeben wurde, ausgedehnte Nekrosen und Zellschwellungen. Oft sind davon alle Zellen eines Tubulusquerschnittes betroffen.
Wird Hb 2 Stunden nach Ischämie verabreicht, so haben wir nahezu das gleiche Ausmaß an Schäden.
Im Hb-Ischämie Kollektiv werden auch die meisten Zellen in die Lumina abgegeben, die ihrerseits mit abgestoßenen Zellen schon vollgestopft sind. Häufig ist weiterhin eine kuppenförmige Aufweitung des apikalen Zellanteils mit Vorbuckelung ins Lumen. Manchmal können die von THOENES (1964) beschriebenen Kuppenblasen festgestellt werden.

Wirkt einer der Faktoren, d.h. Ischämie oder Hb-Belastung allein auf die Tubuluszelle ein, so ist das Ausmaß der Zellschädigung geringer, da die Zelle in der Lage ist, diese Einflüsse bis zu einem bestimmten Grad zu kompensieren.

Wirken jedoch Hb u n d Ischämie auf die Rattenniere ein, so entstehen bei weitem die größten Zelläsionen. Ähnliche Ergebnisse erzielte auch LOWE (1966) mit Untersuchungen an Kaninchen, die eine Nierenschädigung zeigten, wenn geringe Nephrotoxindosen oder kurze Ischämiezeiten mit Hb-Injektionen kombiniert wurden.

Zusammenfassung

An insgesamt 24, etwa 180 g schweren männlichen Wistarratten wurden die Veränderungen der Ultrastruktur proximaler Tubuluszellen der Niere während der Hämoglobinresorption und zusätzlicher Einwirkung einer temporären Ischämie untersucht. Zu diesem Zwecke wurden drei Versuchsgruppen 30 Min. vor, unmittelbar oder 2 Stunden nach einstündiger Ischämie Hämoglobininjektionen (200 mg/100 g kG als 16,4% stromafreie Hb-Lösung i.v.) verabreicht und entsprechende Kontrolluntersuchungen an nur mit Hämoglobin und Scheinoperation, sowie nur mit Ischämie behandelten Gruppen durchgeführt.

Die elektronenmikroskopische Auswertung der Nieren nach 48 Stunden Wiederdurchblutungszeit führte unter Berücksichtigung vorausgehender lichtmikroskopischer Studien zu folgenden Ergebnissen:
Auch die einer einstündigen Ischämie ausgesetzte Tubuluszelle ist in der Lage, Hb aufzunehmen und bis zu einer bestimmten Stufe, die der Aufnahme und dem Transport 2 bis 6 Stunden nach Hb-Injektion in normalen Rattennieren entspricht, zu verwerten. Die Lysosomen unterscheiden sich in diesen Gruppen von denen in Zellen, die nur Hb erhalten haben, sowohl in Quantität als auch in Qualität. So finden sich in den Ischämie-Hb-Gruppen eine weitaus größere Zahl von Lysosomen als in den nur mit Hb belasteten. Die Lysosomen in den Ischämie-Hb-Gruppen sind ausschließlich Hetero- und Ambilysosomen, während in den Hb-Gruppen auch Autolysosomen vorhanden sind.

Die schwersten Zellschäden und Veränderungen entstehen, wenn Hb 30 Minuten vor oder 2 Stunden nach Ischämie gegeben wird und sind wesentlich ausgeprägter als bei alleiniger Ischämie oder Hämoglobinbelastung.

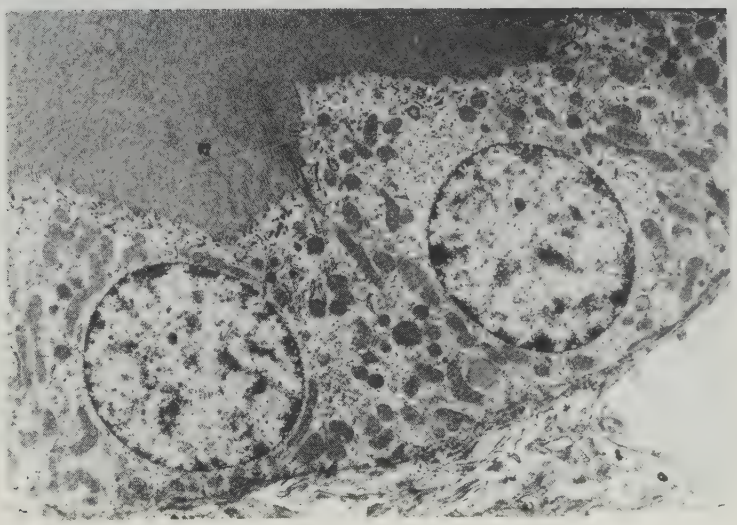

Abb.1 Übersicht zweier Tubuluszellen aus der scheinoperierten Kontrollgruppe. Der Bürstensaum ist hoch und dicht, die Zellen sind nicht wesentlich verändert. Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 6300.

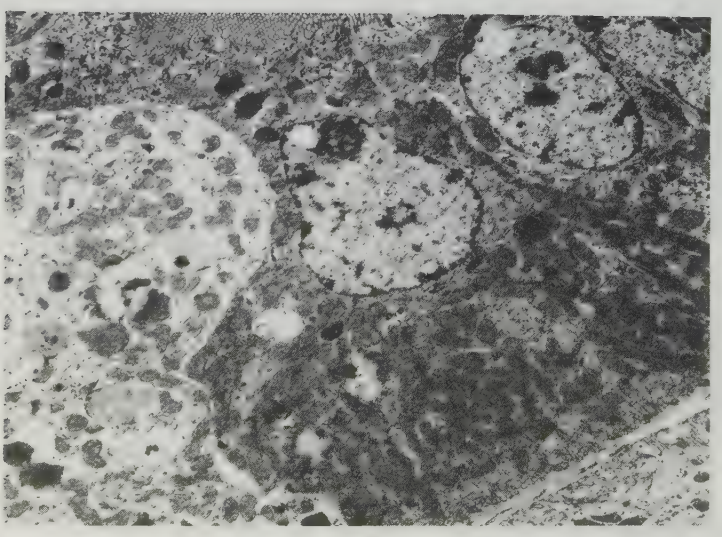

Abb.2 Übersicht Hauptstück einer Rattenniere nach 60 minütiger Ischämie und 48 Stunden Wiederdurchblutung. Neben relativ gering geschädigten Zellen hydropisch geschwollene Zellen.
Uranylacetat- und Bleikontrastierung
X 6300.

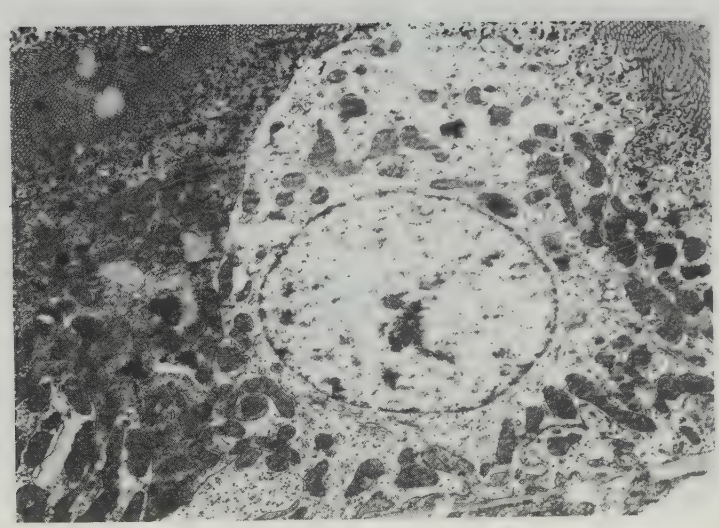

Abb.3 Wie Abb.2

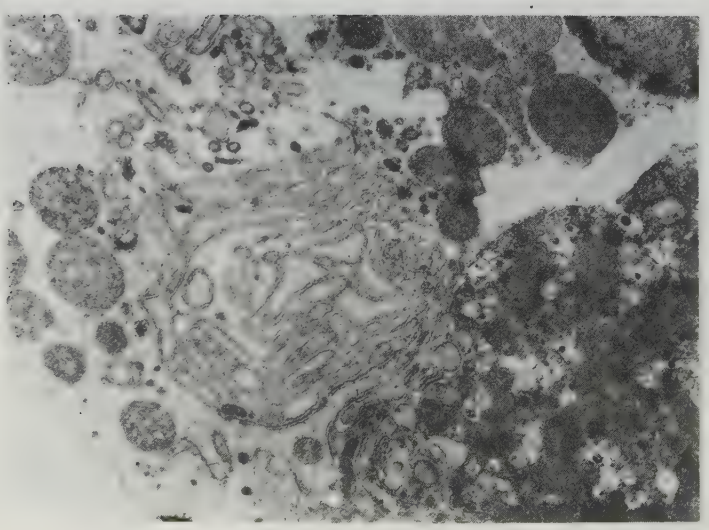

Abb.4 Blasenartige Aufweitung der Mikrovilli an Stellen der Cytolyse. Injektion von 200 mg stromafreiem Hämoglobin / 100 g KG i.v., 30 Min. vor Anlegen der einstündigen Ischämie, Überlebenszeit 48 Stunden.
Uranylacetat- und Bleikontrastierung
X 16800

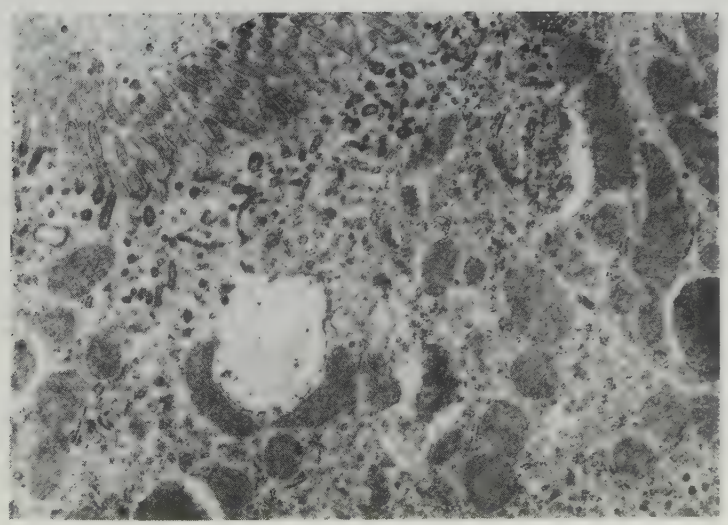

Abb.5 Unterhalb des Bürstensaums nehmen apikale Vakuolen Pinocytosenvesikel auf (➞), die sich vom Bürstensaum abschnüren. Hb-Injektion 200 mg/100 g Kg i.v. 30 Min. vor Anlegen der einstündigen Ischämie. Überlebenszeit 48 Stunden.
Uranylacetat- und Bleikontrastierung
X 21000.

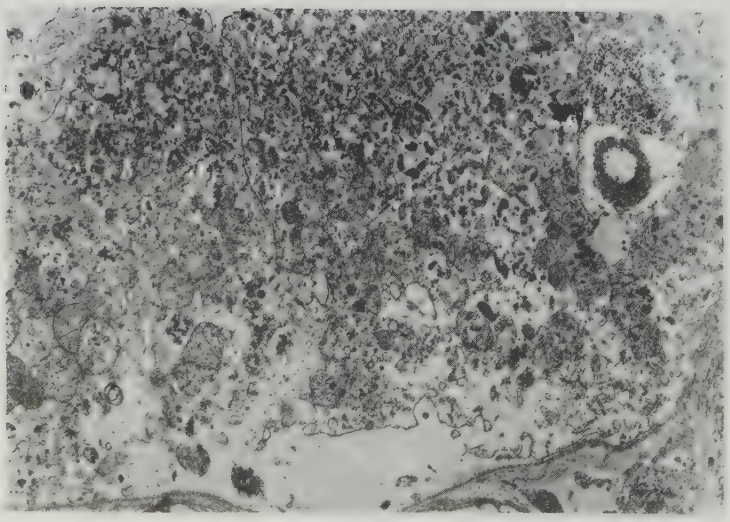

Abb.6 In der Gruppe, die 200 mg Hb/100 g KG 30 Min. vor einstündiger Ischämie erhielt, heben sich einige schwer geschädigte Zellen direkt von der Basalmembran ab. Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 6300.

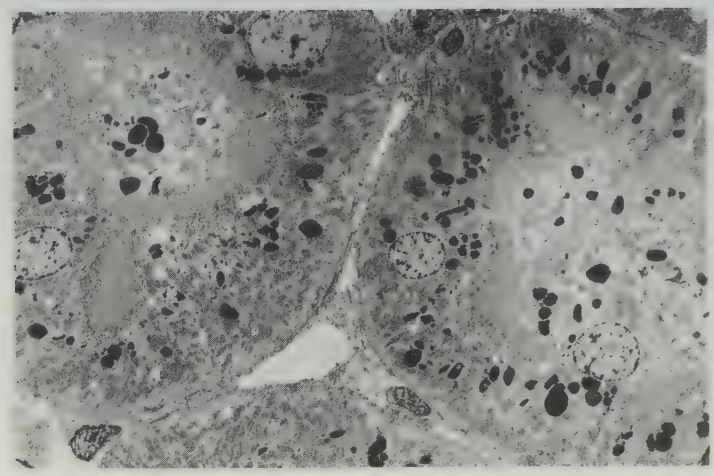

Abb.7 Übersicht Hauptstücke einer Rattenniere. Unmittelbar nach einstündiger Ischämie wurden 200 mg/100 g KG stromafreie Hb-Lösung i.v. injiziert. Überlebenszeit 48 Stunden. Die Tubuluszellen enthalten noch homogene elektronendichte Tröpfchen, die sich auch in abgestoßenen Zellen und Zellteilen finden, welche die weiten Lumina ausfüllen.
Uranylacetat- und Bleikontrastierung
X 2625.

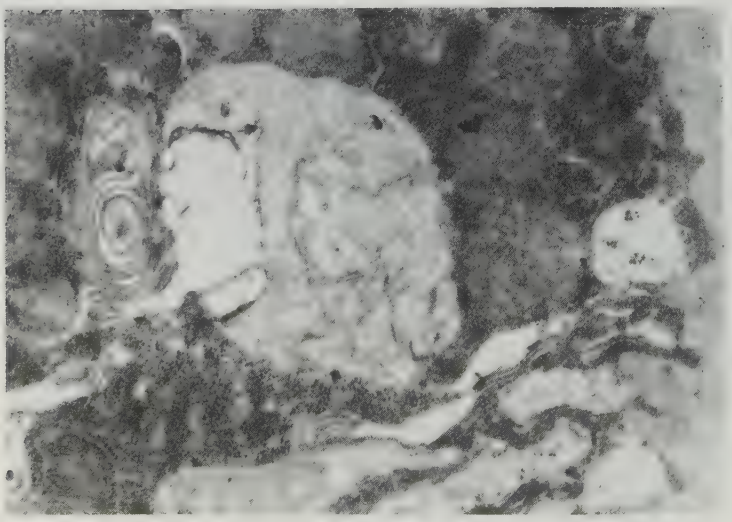

Abb.8 Anhydropische Nekrose mit Myelinfigurbildung. Unmittelbar nach einstündiger Ischämie wurden 200 mg/100 g KG stromafreie Hb-Lösung i.v. injiziert. Überlebenszeit 48 Stunden.
Uranylacetat- und Bleikontrastierung
X 42000.

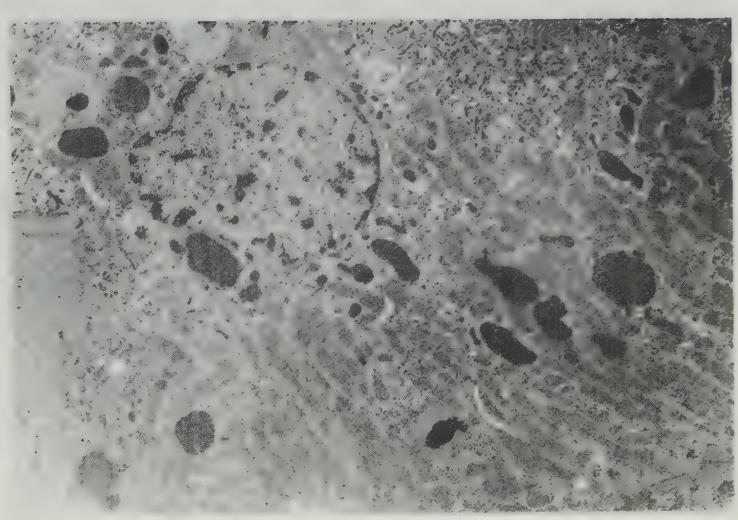

Abb.9 Übersicht Hauptstückzelle einer Rattenniere. Unmittelbar nach einstündiger Ischämie wurden 200 mg/100 g KG stromafreie Hb-Lösung i.v. injiziert. Der Bürstensaum bricht ab (➞), Teile des Zellinhaltes und der Zellkern werden gerade ins Lumen ausgestoßen. Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 6300.

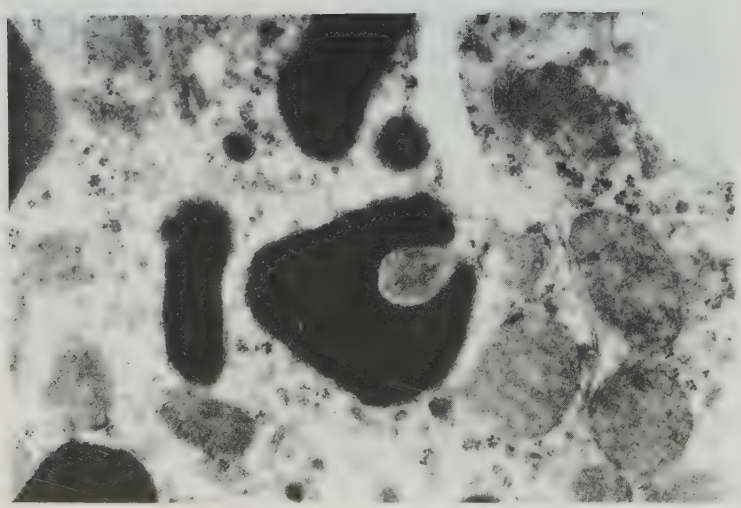

Abb.10 Ein mit elektronendichtem Material voll beladenes Phagosom ist in der Lage, zusätzlich noch zelleigenes Material, wie z.B. Mitochondrien aufzunehmen. Unmittelbar nach einstündiger Ischämie wurden 200 mg/100 g KG stromafreie Hb-Lösung i.v. injiziert. Überlebenszeit 48 Stunden. Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 42000.

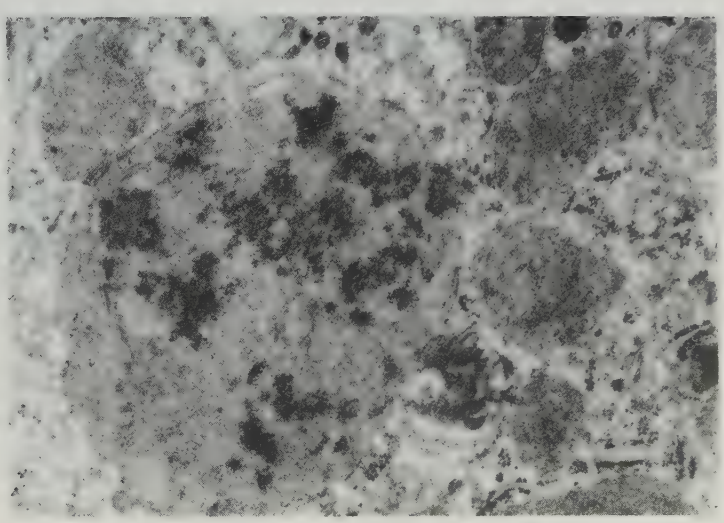

Abb.11 Hb 2 Std. nach einstündiger Ischämie. In dieser Gruppe finden sich schon einige Ambi- bzw. Telolysosomen, die eine beträchtliche Größe aufweisen. 200 mg/100 g KG stromafreie Hb-Lösung i.v., Überlebenszeit 48 Stunden.
Uranylacetat- und Bleikontrastierung
X 42000

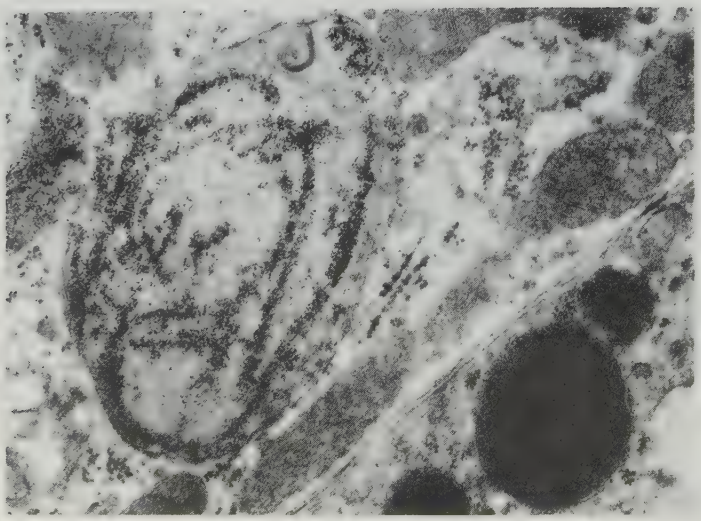

Abb.12 Wie Abb.11

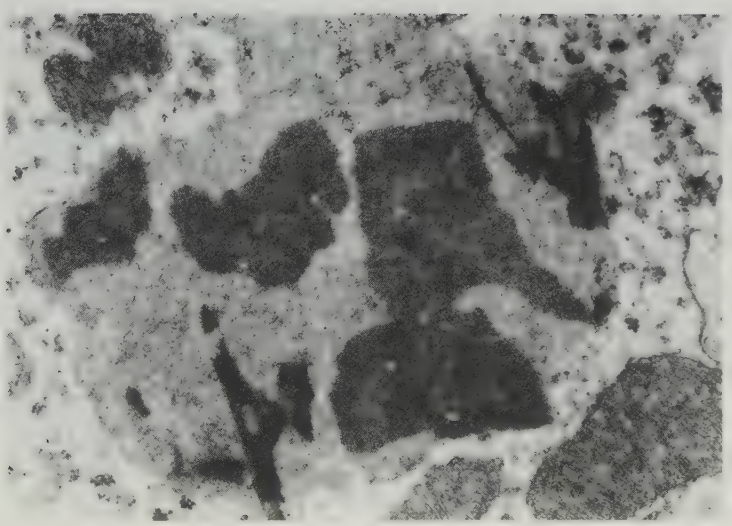

Abb.13 Hb 2 Stunden nach einstündiger Ischämie. In dieser Gruppe wird in einigen Zellen das Hb wie in Tafeln gespeichert. Auch hier weisen die Lysosomen eine erhebliche Größe auf.
Uranylacetat- und Bleikontrastierung
X 42000

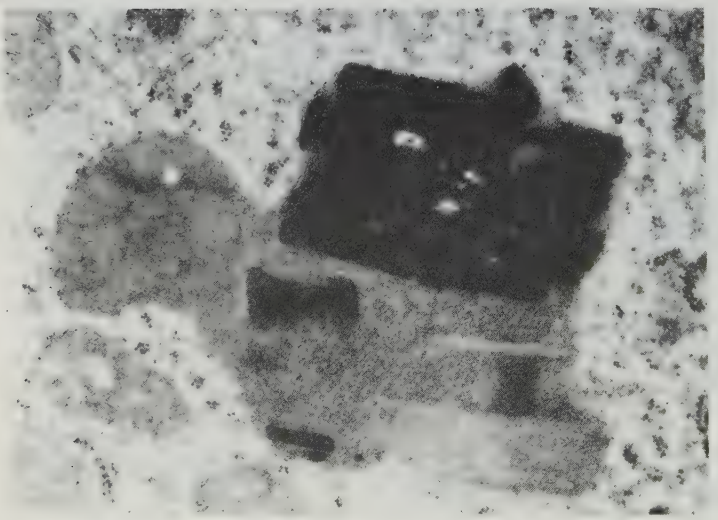

Abb.14 Wie Abb.13

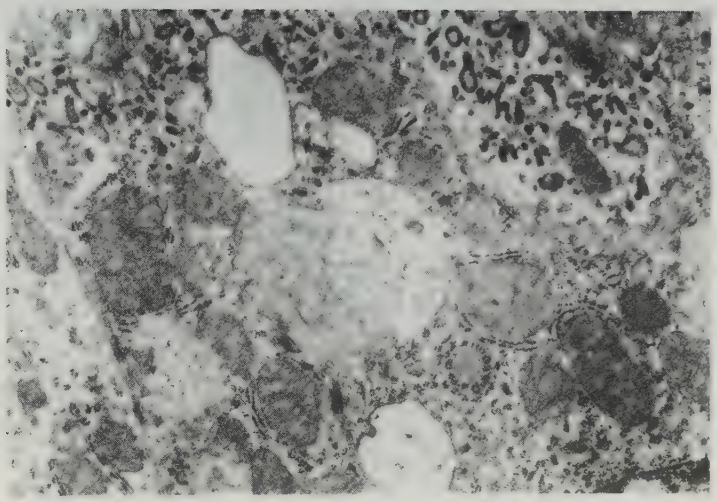

Abb.15 Hb 2 Stunden nach Ischämie. ER-Schläuche legen sich circulär um Mitochondrien herum, damit beginnt die Autophagie. Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 21000.

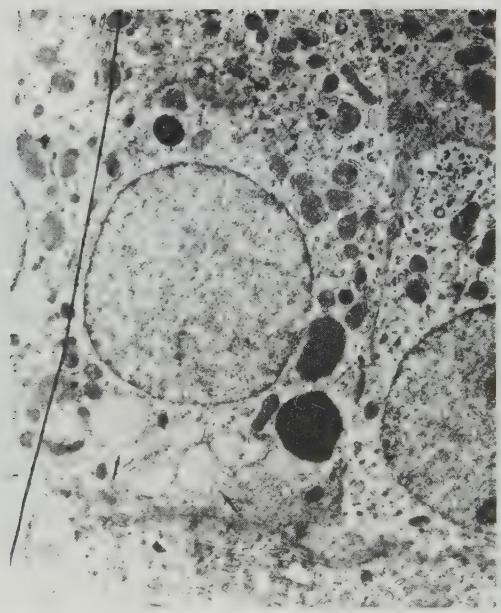

Abb.16 Hb 2 Stunden nach einstündiger Ischämie. Sehr viele Kerne mit Mitosezeichen. Das Karyoplasma ist völlig transparent, die Kernhülle glatt gespannt. Im basalen Zellanteil treten Fettropfen auf (➞) Überlebenszeit 48 Stunden. Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 6300.

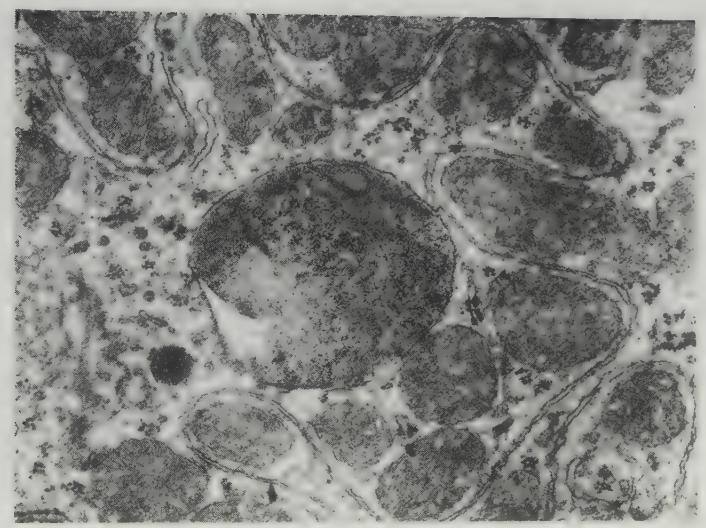

Abb.17 Hb-Gruppe. Die meisten Lysosomen liegen als Telolysosomen mit feingranuliertem Inhalt vor.
Uranylacetat- und Bleikontrastierung
X 42000.

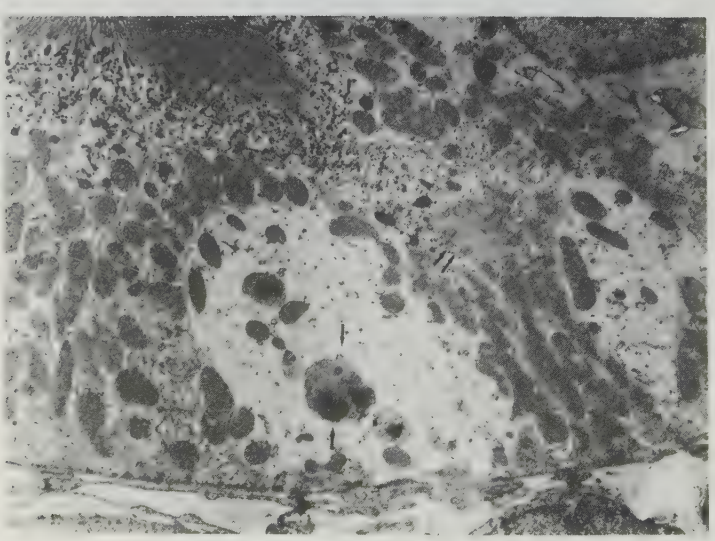

Abb.18 Hb-Gruppe. Neben Telo- (⟵ ⟶) und Ambilysosomen (⟵ ⟶) in stark hydropisch veränderten Zellen finden wir in weniger veränderten Zellen Autolysosomen (⟹). Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 6300.

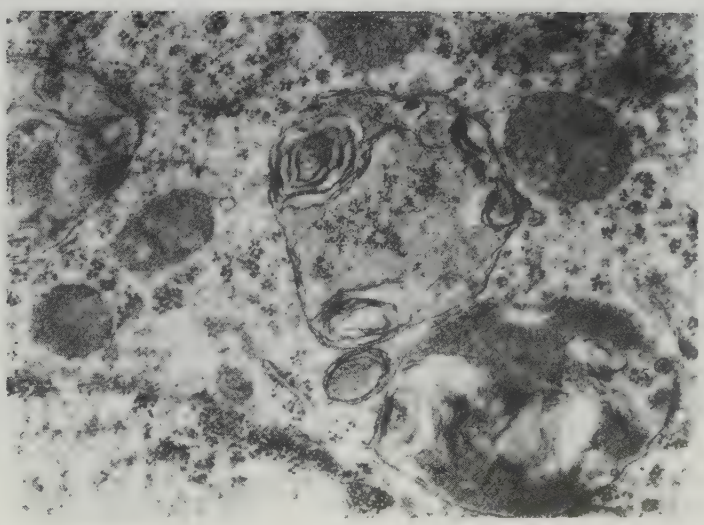

Abb.19 Myelinfiguren in Gruppe 7, 200 mg/100 g KG stromafreie Hb-Lösung unmittelbar nach Scheinoperation. Die Lysosomen enthalten neben feinscholligem und granuliertem elektronendichtem Material konzentrisch geschichtete Myelinfiguren. Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 42000.

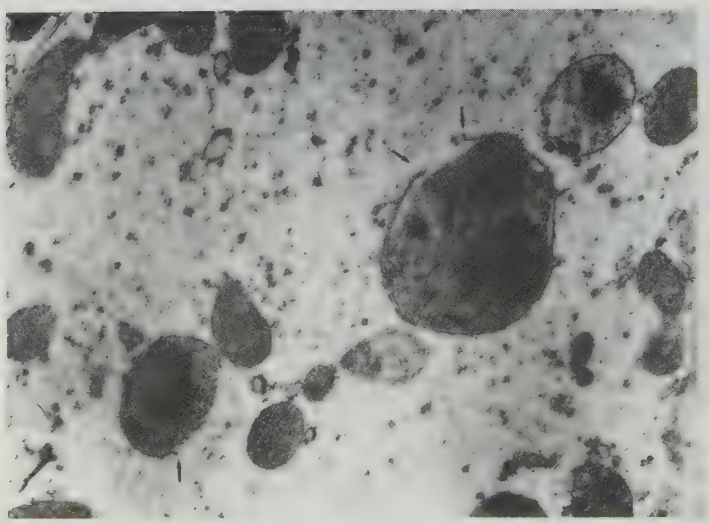

Abb.20 In hydropisch geschwollenen Zellen der Hb-Gruppe sind meist die begrenzten Membranen der mit Hb bzw. seinen Abbauprodukten beladenen Lysosomen rupturiert (➞), es entsteht Kontakt zum Cytoplasma. Uranylacetat- und Bleikontrastierung X 21000.

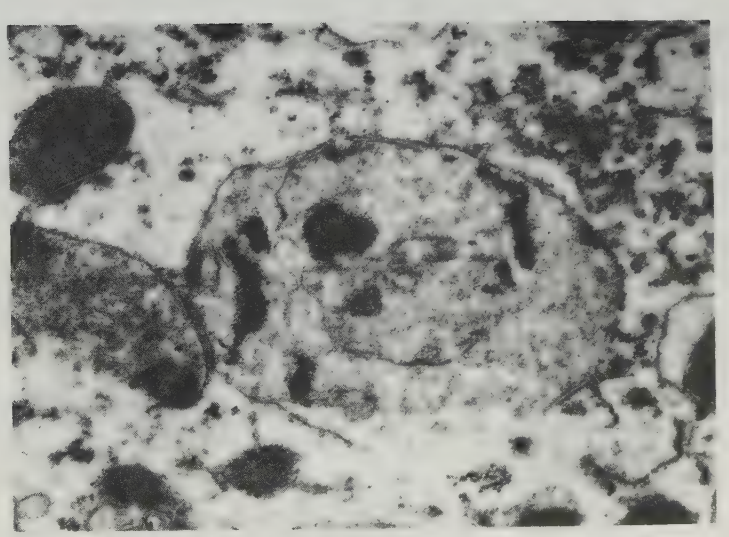

Abb.21 Wie Abb.20, jedoch X 42000.

Literaturverzeichnis

BLÖHMER, A., K.-P.KARSUNKY, J.MERZ, R.TAUGNER:
Zum Schicksal, vor allem zur Nierenausscheidung von exogenem Hämoglobin und Myoglobin bei der Ratte
Z.ges.exp.Med. 155, 112-127 (1971)

BOURDEAU, J.E. and F.A.CARONE: Protein handling by the renal tubule
Nephron 13, 22-34 (1974)

BRANDT, P.W.: A study of the mechanism of pinocytosis
Experimental cell research 15, 300-313 (1958)

BRAUN, S.R., F.R.WEISS, A.J.KELLER, J.R.CICCONE and H.G.PREUSS: Evaluation of the renal toxicity of heme proteins and their derivates: a role in the genesis of the acute tubule necrosis
J.exp.Med. 131, 443-460 (1970)

BUNN, H.F. and J.H.JANDL: The renal handling of hemoglobin II. Catabolism
J.exp.Med. 129, 925-934 (1969)

BUNN, H.F., W.T.ESHAM and R.W.BULL: The renal handling of hemoglobin. I. Glomerular filtration
J.exp.Med. 129, 909-924 (1969)

CUPPAGE, F.E., M.CHIGA and A.TATE: Mitochondrial proliferation within the nephron. I. Comparison of mitochondrial hyperplasia of tubular regeneration with compensatory hypertrophy
Am.J.Path. 70, 119-130 (1973)

DE DUVE, C. and R.WATTIAUX: Functions of lysosomes
Am.Rev.Physiol. 28, 435-492 (1966)

DALLNER, G. and J.L.E.ERICSSON: Studies on oxidative enzyme systems of the rat kidney after hemolysis and hemoglobinuria
Acta path.microbiol.Scand. 61, 333-352 (1964)

ERICSSON, J.L.E.: Absorption and decomposition of homologous hemoglobin in renal proximal tubule cells. Acta path.microbiol.Scand. Suppl.168 (1964)

ERICSSON, J.L.E.: Fine structural basis for hemoglobin filtration by glomerular capillaries. Nephron 5, 7-23 (1968)

ERICSSON, J.L.E. and F.K.MOSTOFI: Experimental hemoglobinuric nephropathy. II.Electron microscopic studies Virchows Arch.Abt.B Zellpath. 3, 201-218 (1969)

ERICSSON, J.L.E., F.K.MOSTOFI and G.LUNDGREEN: Experimental hemoglobinuric nephropathy. I.Comparative light microscopic, histochemical, and pathophysiologic studies Virchows Arch.Abt.B Zellpath. 3, 181-200 (1969)

FÖRSTER, H. und I.HOOS: Stoffwechseluntersuchungen bei Verwendung stromafreier Hämoglobinlösungen als Sauerstoffträger Die Infusionstherapie. Grundlagen und Klinik I, 6, 455-462 (1974)

GLAUERT, A.M., G.E.ROGERS and R.H.GLAUERT: A new embedding medium for electron microscopy Nature 178, 803 (1956)

JACOBSEN, N.O. and F.JØRGENSEN: Ultrastructural observation on the pars descendens of the proximal tubule in the kidney of the male rat Z.Zellforschung 136, 479-499 (1973)

JAENIKE, J.R.: The renal lesions associated with hemoglobinemia. I. Its production and functional evolution in the rat J.exp.Med. 123, 523-535 (1966)

JAENIKE, J.R.: Micropuncture study of methemoglobin-induced acute renal failure in the rat J.Lab. & Clin.Med. 73 No.3, 459-468 (1969)

JAENIKE, J.R. and E.E.SCHNEEBERGER: The renal lesions associated with hemoglobinemia. II. Its structural characteristics in the rat
J.exp.Med. 123, 537-546 (1966)

LOWE, M.B.: Effects of nephrotoxins and ischaemia in experimental hemoglobinuria
J.Path.Bact. (Edinb.) 92, 319-323 (1966)

MASON, J.B. and F.C. MANN: The effect of hemoglobin on the volume of the kidney
Am.J.Path. 98/2, 181-185 (1931)

MAUNSBACH, A.B.: Function of the lysosomes in kidney cells. In: J.T.DINGLE and H.B.FELL, Lysosomes in biology and pathology, Vol.1, 115-154 North Holland Publishing Company, Amsterdam-London 1969

MAUNSBACH, A.B. and H.B.NEUSTEIN: Autoradiografic demonstration of hemoglobin in lysosomes of rabbit proximal tubule cells during experimental hemoglobinemia
J.Ultrastruct.Res. 25, 183-192 (1968)

MILLER, F.: Hemoglobin absorption by the cell of the proximal convoluted tubule in mouse kidneys
J.Biophys.Biochem.Cytol. 8, 689-718 (1960)

NEUSTEIN, H.B. and A.B.MAUNSBACH: Hemoglobin absorption by proximal tubule cells of the rabbit kidney. A study by electron microscopic autoradiography
J.Ultrastruct.Res. 16, 141-157 (1966)

OCHS, R.: Tierexperimentelle Studien über den Einfluß von Hämoglobininjektionen auf die ischämisch geschädigte Rattenniere.
Inaugural-Dissertation Tübingen 1976

PESKIN, G.W., K.O'BRIEN and S.F.RABINER: Stromafree hemoglobin solution. The "ideal" blood substitute?
Surgery 66, 185-193 (1969)

RABINER, S.F., K. O'BRIEN, G.W.PESKIN and L.FRIEDMAN: Further studies with stroma-free hemoglobin solution
Ann.Surg. 171, 615-622 (1970)

REYNOLDS, E.S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy
J.Cell Biol. 17, 208-212 (1963)

RUIZ-GUINAZU, A., J.B.COELHO and R.A.PAZ: Methemoglobin-induced acute renal failure in the rat
Nephron 4, 257-275 (1967)

SANDRITTER, W. und G.BENEKE: Allgemeine Pathologie
F.K.Schattauer-Verlag, Stuttgart - New York 1974

SLATER, T.F.: Lysosomes and experimentally induced tissue injury. In: J.T.DINGLE and H.B.FELL, Lysosomes in biology and pathology Vol.1, 477-479 North Holland Publishing Company, Amsterdam-London 1969

SUNDER-PLASSMANN, L., R.DIETERLE, J.SEIFERT, F.JESCH and K.MESSMER: Stromafree hemoglobin solution as a blood replacement fluid. Actual state and problems
Europ.J.Intensive Care Med. 1, 37-42 (1975)

THOENES, W.: Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie
Georg Thieme-Verlag Stuttgart 1964

UNSELD, J.M.: Blutersatz durch stromafreie Hämoglobin-lösung
Anaesthesiologie und Wiederbelebung 85,
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1974

USHIGOME, S.: Experimental hemoglobinuric nephrosis in rabbits: light and electron microscopic studies
Jicei.Med.J. 14, 177-205 (1967)

WEICHERT, G. und E.SCHULZ: Über die Einwirkung kontinuierlicher intravenöser Infusionen von homologem Hämoglobin auf die Nierenfunktion des Hundes
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 4, 175-181 (1974)

YUILE, C.L., M.A.GOLD and E.G.HINDS: Hemoglobin precipitation in renal tubules
J.Exp.Med. 82, 361-374 (1945)

Lebenslauf

Am 2. Juni 1949 wurde ich, Angelika Susanne Haupt, geb. Krauß als Tochter des Ing. grad. Walter Johannes Krauß und seiner Ehefrau Magdalene, geborene Simons, in Esslingen am Neckar geboren.

Nach vierjährigem Grundschul- und einjährigem Realschulbesuch trat ich in das Mädchengymnasium Esslingen ein. Von 1965 ab besuchte ich das Mörikegymnasium Göppingen, wo ich am 28. Juni 1968 das Abitur bestand.

Von März 1970 bis März 1972 absolvierte ich am Hygiene-Institut der Universität Tübingen eine Ausbildung zur medizinisch-technischen Assistentin.

Zum Sommersemester 1972 immatrikulierte ich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen im Fach Humanmedizin. Hier legte ich im März 1973 das Vorphysikum, 1974 das Physikum, 1975 den 1.Abschnitt der ärztlichen Prüfung und im März 1977 den 2.Abschnitt der ärztlichen Prüfung ab.

Anschließend leistete ich am Kreiskrankenhaus Reutlingen das Praktische Jahr für Medizinstudenten in den Fächern Chirurgie, Innere Medizin und Kinderheilkunde ab. Das Studium beendete ich erfolgreich am 26.4.1978 mit dem 3.Abschnitt der ärztlichen Prüfung nach der Approbationsordnung für Ärzte.